

## Estimulação elétrica minimiza alterações metabólicas musculares durante e após a imobilização de membro posterior de ratos

### Electrical stimulation minimizes muscle metabolic alterations during and after immobilization of rats hindlimb

*título condensado:* Estimulação elétrica durante e após imobilização

Carolina Náglio Kalil Dias<sup>1</sup>, Karina Maria Cancelliero<sup>2</sup>, João Luiz Quagliotti Durigan<sup>3</sup>, Carlos Alberto da Silva<sup>4</sup>, Rinaldo Roberto de Jesus Guirro<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Fisioterapeuta; mestranda em Fisioterapia na UFSCar (Universidade Federal de São Carlos)

<sup>2</sup> Fisioterapeuta; Ms; doutoranda em Fisioterapia na UFSCar

<sup>3</sup> Fisioterapeuta; Ms; doutorando em Ciências Fisiológicas na UFSCar

<sup>4</sup> Profs. Drs. do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Unimep (Universidade Metodista de Piracicaba)

#### ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Carolina Náglio Kalil Dias

Pça. Pacífico Costa Lima, 53, Vila Quintino

13.736-000 Mococa SP

e-mail: diasckn@yahoo.com.br

Apresentação: abr. 2005

Aceito para publicação: jun. 2006

#### RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da estimulação elétrica (EE) no perfil metabólico e no peso muscular de membro posterior de ratos durante a imobilização e após a retirada da órtese. Trinta e seis ratos Wistar foram divididos em controle (C), controle associado à estimulação elétrica (CEE), imobilizado (Im), imobilizado associado à estimulação elétrica (ImEE), imobilizado e mais sete dias de recuperação pós-retirada da órtese (ImR), e imobilizado com estimulação elétrica durante a recuperação pós-retirada da órtese (ImREE). Após o período experimental, os músculos sóleo (S), gastrocnêmio branco (GB) e vermelho (GV), tibial anterior (TA) e extensor longo dos dedos (ELD) foram coletados para análise das reservas de glicogênio (RG) e avaliação do peso do S e ELD. Pôde-se observar, no grupo apenas imobilizado, que a imobilização promoveu redução significativa nas reservas de glicogênio em todos os músculos e no peso muscular do S e ELD. A EE aumentou significativamente as RG dos grupos CEE e ImEE, porém não interferiu no peso. No período de recuperação, no grupo que não recebeu EE houve redução significativa nas RG e no peso muscular, enquanto no grupo que recebeu EE aumentaram significativamente as RG (257,9% S, 308,1% GB, 343,3% GV, 312% TA, 240,7% ELD) e o peso do ELD (12%). A EE minimizou pois os efeitos deletérios durante a imobilização e no período de remobilização, mostrando-se de grande eficácia no tratamento clínico de situações que levam ao desuso muscular.

DESCRITORES: Estimulação elétrica; Imobilização; Reabilitação

#### ABSTRACT

This study aimed at assessing the effect of electrical stimulation (ES) in muscles metabolic profile and weight of rats hindlimb during the limb immobilization period and after casts were removed. Thirty-six Wistar rats were divided into 6 groups: control (C); control but receiving ES (CES); immobilized (Im); immobilized receiving ES during immobilization (ImEE); immobilized and observed during recuperation for seven days after cast removal (ImR); and immobilized and receiving ES during recuperation for seven days after cast removal (ImREE). After the experimental period the soleus (S), white gastrocnemius (WG), red gastrocnemius (RG), anterior tibial (AT) and extensor digitorum longus (EDL) muscles were collected for analysis of glycogen reserves (GR), besides S and EDL weight evaluation. Results show that, in the Im group, immobilization caused significant GR and muscle weight reduction. Inversely, ES produced significant GR increase in CEE and ImEE groups, but did not interfere in muscle weight. During recuperation after cast removal, the group that did not receive ES (ImR) showed significant reductions in muscle GR and weight, while in the ImREE group there was significant increase in RG (257.9% S, 308.1% WG, 343.3% RG, 312% AT, 240.7% EDL) and in EDL weight (12%). ES thus minimized deleterious effects both during and after immobilization, pointing to its great efficiency in clinical treatment situations of muscle disuse.

KEY WORDS: Electrical stimulation; Immobilization; Rehabilitation.

## INTRODUÇÃO

A plasticidade das fibras musculares esqueléticas permite que estas se adaptem, deflagrando mudanças na tipagem ou no tamanho de fibras. Múltiplos estímulos podem promover essas mudanças, merecendo destaque a desnervação, imobilização, inatividade prolongada, alterações hormonais, nutrição, estimulação elétrica, entre outros<sup>1</sup>. Matthews e St. Pierre<sup>2</sup> ressaltam que tanto a atrofia muscular quanto força reduzida, ocasionadas pela imobilização ou ato cirúrgico, nem sempre voltam ao normal, apesar de extensiva reabilitação.

Para Halar e Kathleen<sup>3</sup>, o desuso reduz a reserva funcional do sistema musculoesquelético, resultando em fraqueza, atrofia e baixa resistência à fadiga. A fraqueza muscular que decorre da imobilização está associada à redução das reservas de glicogênio e creatina quinase, dos sarcômeros em série, bem como à redução da força e resistência à fadiga, decorrente da atrofia das fibras I e II e da função aeróbia.

Hirose *et al.*<sup>4</sup> observaram a presença do quadro de resistência à insulina em pacientes inativos fisicamente ou imobilizados, porém ainda não está claro se ou como o desuso muscular crônico ou a imobilização alteram a sinalização de insulina. Segundo Henriksen<sup>5</sup>, há uma diminuição dos transportadores GLUT4 pelo desenvolvimento da resistência ao transporte de glicose estimulado pela insulina.

Foi demonstrado que o aumento na atividade contrátil induzida pelo exercício físico favorece a captação de glicose pelas fibras musculares. Isso é explicado pela translocação de transportadores GLUT4 insensíveis à insulina de reservatórios citosólicos para a membrana, aumentando com isso a captação de glicose<sup>6</sup>. Segundo Goodyear e Kahn<sup>7</sup>, o exercício induz uma melhora na sensibilidade do músculo para a insulina, sendo que seus efeitos podem durar por várias horas após o final do exercício.

No entanto, muitos pacientes não podem se beneficiar do exercício físico, por alguma debilidade física, permanência longa no leito ou imobilização de membro. Nesse período, um recurso fisioterapêutico que pode substituir a atividade contrátil voluntária, trazendo benefícios ao paciente, é a estimulação elétrica, pelo fato de esta promover a contração muscular, prevenindo ou retardando as consequências da atrofia por desuso.

Segundo Vanderthommen e Crielaard<sup>8</sup>, a estimulação elétrica é freqüentemente usada para fortalecer o músculo normal; na área médica, vários pesquisadores têm ressaltado seu valor para tratar atrofia decorrente da imobilização.

Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da estimulação elétrica no perfil energético e na massa muscular. Foi aplicada estimulação elétrica de baixa freqüência em dois momentos de imobilização do membro posterior de ratos: uma durante o período de imobilização e outra sete dias após a retirada da órtese.

## METODOLOGIA

Ratos Wistar (de 3 a 4 meses, 250-350 g), fornecidos pelo biotério da Unimep, foram alimentados com ração e água *ad libitum* e mantidos em três animais por caixa<sup>9</sup> sob condição controlada de biotério (12h claro/escuro, 23°C±2). Os 36 animais foram tratados segundo recomendações do *Guide for care use of laboratory animals*<sup>10</sup> e divididos em seis grupos (n=6 em cada grupo): controle (C), controle

associado à estimulação elétrica (CEE), imobilizado (Im), imobilizado associado à estimulação elétrica (ImEE), imobilizado seguido de sete dias de recuperação pós-retirada da órtese (ImR) e imobilizado associado a estimulação elétrica durante os sete dias de recuperação pós-retirada da órtese (ImREE).

O grupo controle somente permaneceu livre na gaiola durante sete dias, sendo sacrificado em seguida; o grupo CEE permaneceu livre na gaiola recebendo estimulação elétrica na pata posterior esquerda durante sete dias, sendo também sacrificado após esse período.

A imobilização foi realizada durante um período de sete dias utilizando a órtese de resina acrílica proposta por Silva *et al.*<sup>11</sup> (Figura 1), sendo que o grupo Im apenas permaneceu imobilizado durante o período; o grupo ImEE recebeu estimulação elétrica durante os sete dias de imobilização; o grupo ImR foi imobilizado durante sete dias e permaneceu livre na gaiola por mais sete dias após a retirada da órtese; e o grupo ImREE foi imobilizado durante sete dias e recebeu estimulação elétrica somente durante os sete dias em que ficou livre na gaiola após a retirada da órtese. Os grupos Im e ImEE foram sacrificados logo após a retirada da órtese; e os grupos ImR e ImREE foram sacrificados sete dias depois da retirada da órtese (período de observação), ou seja, 14 dias após o início dos experimentos. Por apresentar um peso reduzido (22 gramas), a imobilização não interferiu na deambulação, permitindo a descarga de peso no membro imobilizado durante a deambulação.

*inserir Figura 1*

**Figura 1** Órtese em posição neutra do tornozelo constituída de modelo de resina acrílica (1), rotadores laterais (2) e cinta abdominal (3)

Para o tratamento com estimulação elétrica, os animais dos grupos CEE, ImEE e ImREE foram anestesiados com tiopental na concentração de 40 mg/kg e o membro inferior esquerdo tricotomizado para garantir uma maior efetividade da estimulação e o posicionamento dos eletrodos. Os músculos sóleo e gastrocnêmios foram submetidos à estimulação diária de 20 minutos, por um período de sete dias. A frequência utilizada foi de 10 Hz, em função da ênfase ser dada ao músculo sóleo, constituído principalmente por fibras do tipo I, e a largura de fase foi de 0,4ms. A intensidade da corrente foi padronizada em 5,0mA a partir da visualização da contração muscular e, a cada 5 minutos, foi aplicado um acréscimo de 1,0mA à corrente, para não haver acomodação. O equipamento utilizado para a estimulação elétrica foi o Dualpex 961 (Quark®), além de eletrodos de silicone-carbono com área de 1 cm<sup>2</sup> cada (Figura 2).

*inserir Figura 2*

**Figura 2** Posicionamento de eletrodos durante a estimulação elétrica no membro inferior esquerdo do grupo controle (A) e do grupo imobilizado (B), sendo o eletrodo 1 localizado na região inguinal e o eletrodo 2 na região do músculo tríceps sural

Após o período experimental de cada grupo ou par de grupos, conforme descrito acima, os animais foram sacrificados por decapitação e os músculos sóleo, gastrocnêmio branco, gastrocnêmio vermelho, tibial anterior e extensor longo dos dedos coletados e submetidos à avaliação do glicogênio muscular segundo a proposta de Siu *et al.*<sup>12</sup>, na qual as amostras musculares são digeridas em KOH 30% a quente e o glicogênio precipitado pela passagem por etanol a quente. Entre uma fase e outra da precipitação, a amostra é centrifugada; o glicogênio precipitado é submetido à hidrólise ácida na presença de fenol. Os valores foram expressos em mg/100mg de peso úmido. Os

músculos sóleo e extensor longo dos dedos também passaram pela avaliação de peso.

A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov seguido pela ANOVA e teste de Tukey, sendo que em todos os cálculos foi fixado o nível crítico de 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Em relação ao perfil energético da musculatura esquelética durante a imobilização do membro posterior, em posição neutra do tornozelo, houve significativa diminuição no conteúdo muscular de glicogênio no grupo Im: redução de 31,6% no sóleo (S), 56,6% no gastrocnêmio branco (GB), 39% no gastrocnêmio vermelho (GV), 41,7% no extensor longo dos dedos (ELD) e 45,2% no tibial anterior (TA), sugerindo uma integração funcional entre a homeostasia no processo contrátil das fibras e o controle no metabolismo muscular dos carboidratos (Tabela 1).

Além do comprometimento metabólico, o peso muscular também foi afetado pela imobilização nesse período, havendo redução de 34% no músculo sóleo e de 27% no ELD no grupo Im (Tabela 2). Vale ressaltar que a estimulação elétrica durante os sete dias pós-retirada da órtese não foi eficiente em modificar o peso dos músculos normais ou imobilizados, conforme mostra a Tabela 2.

**Tabela 1** Concentração de glicogênio (mg/100mg, média  $\pm$  erro padrão) nos músculos sóleo (S), gastrocnêmio branco (GB) e vermelho (GV), extensor longo dos dedos (ELD) e tibial anterior (TA) dos grupos controle (C), controle com estimulação elétrica (CEE), imobilizado (Im), imobilizado com estimulação elétrica (ImEE), imobilizado + recuperação de sete dias após retirada da órtese (ImR) e imobilizado + recebendo estimulação elétrica durante sete dias após a retirada da órtese (ImREE)

Grupos	S	GB	GV	ELD	TA
C	0,38 $\pm$ 0,03	0,46 $\pm$ 0,02	0,41 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,03	0,31 $\pm$ 0,03
CEE	0,54 $\pm$ 0,004*	0,65 $\pm$ 0,04*	0,48 $\pm$ 0,03	0,40 $\pm$ 0,01	0,54 $\pm$ 0,05*
Im	0,26 $\pm$ 0,02*	0,20 $\pm$ 0,02*	0,25 $\pm$ 0,03*	0,21 $\pm$ 0,02*	0,17 $\pm$ 0,02*
ImEE	0,35 $\pm$ 0,02#	0,29 $\pm$ 0,009#	0,36 $\pm$ 0,01#	0,30 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,004
ImR	0,19 $\pm$ 0,07*	0,37 $\pm$ 0,04*	0,30 $\pm$ 0,01*	0,27 $\pm$ 0,04*	0,25 $\pm$ 0,02
ImREE	0,68 $\pm$ 0,06♦	1,51 $\pm$ 0,1♦	1,33 $\pm$ 0,04♦	0,92 $\pm$ 0,02♦	1,03 $\pm$ 0,06♦

$p < 0,05$ ; \* significativo quando comparado ao C; # significativo quando comparado ao Im; ♦ significativo quando comparado ao ImR

Ao avaliar o comportamento das reservas musculares de glicogênio em músculos submetidos a tratamento com estimulação elétrica no grupo CEE, foi verificado um significativo aumento nas reservas, atingindo 42,1% no S, 41,3% no GB e 74,2% no TA, apontando para uma elevação na mobilização das reservas de glicose.

Quanto ao grupo que foi submetido ao tratamento com estimulação elétrica sob a condição de imobilização (ImEE), também foi verificada elevação nas reservas, atingindo 34,6% no S, 45% no GB, 44% no GV, 42,8% no ELD e 29,4% no TA (Tabela 1).

Além da observação do comprometimento energético e da massa muscular durante os sete dias de imobilização, este trabalho objetivou verificar se haveria diferença nos sete dias após a retirada da órtese, observando como a musculatura se comportaria nesse período de recuperação. Nesse íterim, no grupo ImR foi observado que os músculos analisados ainda apresentaram redução expressiva nas reservas de glicogênio mesmo após sete dias da retirada da órtese, sendo significantemente menores no S

(50%), no GB (19,6%), no GV (26,8%) e no ELD (25%) quando comparados ao grupo controle (Tabela 1). E, em relação ao peso muscular, os músculos analisados no grupo ImR ainda apresentaram redução em relação ao controle, sendo de 26,6% no S e de 18,4% no ELD (Tabela 2).

**Tabela 2** Peso muscular (mg, média±desvio padrão) dos músculos sóleo (S) e extensor longo dos dedos (ELD) dos grupos controle (C), controle com estimulação elétrica (CEE), imobilizado (Im), imobilizado com estimulação elétrica (ImEE), imobilizado + recuperação de sete dias após retirada da órtese (ImR) e imobilizado + recebendo estimulação elétrica durante sete dias após a retirada da órtese (ImREE)

Grupos	S	ELD
C	123,5±2,1	120,6±8,5
CEE	81,3±1,8*	88,1±7,8*
Im	127,6±3,9	125,1±5,8
ImEE	82,8±3,1	99,5±3,6
ImR	90,7±3,8*	98,42±0,7*
ImREE	86,4±4,9	110,2±3,0♦

p<0,05; \* significativo quando comparado ao C; # significativo quando comparado ao Im; ♦ significativo quando comparado ao ImR

O protocolo de estimulação elétrica foi aplicado nos sete dias seguintes à retirada da órtese no grupo ImREE, e foi verificado aumento expressivo nas reservas de glicogênio, sendo de 257,9% no S, 308,1% no GB, 343,3% no GV, 312% no TA e de 240,7% no ELD (Tabela 1). Apesar da melhora do perfil energético, o peso do sóleo não foi modificado pelo tratamento; somente o peso do ELD, que teve aumento significativo de 12% em relação ao grupo que retirou a órtese e não sofreu intervenção (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

Situações que levam à imobilização do membro geram inevitavelmente atrofia muscular, concomitante às alterações no metabolismo de glicose e no processo contrátil das fibras. Segundo Qin *et al.*<sup>13</sup>, a imobilização tem a função de tratar lesões teciduais e ósseas induzindo atrofia muscular e redução da performance muscular.

A glicose é um dos principais substratos energéticos utilizado pelas fibras musculares, cuja absorção é de caráter multifatorial, dependente da insulina, do metabolismo dos tecidos ou da elevação da atividade contrátil das fibras<sup>14</sup>, sendo que a manutenção das reservas de glicogênio faz parte de um dos mecanismos ativados pela insulina. Em vista disso, pôde-se observar neste estudo que a imobilização do membro do animal durante sete dias provocou uma significativa redução no conteúdo de glicogênio em todos os músculos analisados.

O grau de atrofia muscular varia de acordo com o tipo de fibra submetida ao desuso, a posição articular e o tempo de imobilização. Com relação ao tipo de fibra, McDougall *et al.*<sup>15</sup> atribuem às fibras do tipo II o maior percentual de atrofia, porém Williams e Goldspink<sup>16</sup> não encontraram diferenças quanto ao tipo de fibra. Entretanto, estudos mais recentes mostram que a fibra tipo I é a mais susceptível à atrofia muscular decorrente do desuso<sup>17,18</sup>, corroborando os resultados deste estudo, em que a maior porcentagem de atrofia muscular ocorreu no músculo sóleo, que é um músculo de perfil oxidativo, predominantemente composto por fibras tipo I.

Quanto à posição de imobilização, Appell<sup>19</sup> afirma que, se o músculo for

imobilizado em posição de encurtamento, ocorre uma diminuição do comprimento muscular por diminuição do número de sarcômeros. Segundo Williams e Goldspink<sup>16</sup>, a imobilização em posição de alongamento muscular leva a um aumento de tamanho pela elevação do número de unidades sarcoméricas. Neste estudo, deve-se levar em conta que os músculos foram imobilizados em posição neutra de tornozelo, com a intenção de não manter qualquer tensão na musculatura analisada; além disso, a órtese possibilitava a deambulação do animal, com descarga de peso no membro imobilizado, mantendo o estímulo para os músculos posturais.

Com relação ao tempo de imobilização, Qin *et al.*<sup>13</sup> afirmam que a imobilização em diferentes períodos gera uma atrofia de 15% a 70%, dependendo do animal e do tipo de fibra, mas a maior perda ocorre nos sete primeiros dias. Neste estudo os sete dias de imobilização foram capazes de gerar significativas alterações no perfil energético e na massa dos músculos analisados, sugerindo assim a associação de um tratamento fisioterapêutico nesse período, visando minimizar esse processo.

Mikines *et al.*<sup>20</sup> demonstraram que a inatividade física causada por período acamado tão curto quanto sete dias é associada à redução na sensibilidade à insulina no músculo esquelético. A inatividade física prolongada também mostrou redução na capacidade de transporte de oxigênio de músculo esquelético e resultou em diminuição no conteúdo de GLUT4 associado com resistência à insulina, no estudo de Hamada<sup>21</sup>.

Neste estudo, a estimulação elétrica foi escolhida como o exercício físico, pois é capaz de propiciar aumento da captação de glicose pela musculatura, promovendo a translocação de uma população de transportadores GLUT 4 insensíveis à insulina até a membrana muscular, melhorando a captação da hexose<sup>22</sup>. Hamada *et al.*<sup>21</sup> demonstraram que a captação de glicose corporal é agudamente aumentada em resposta a 20 minutos de estimulação elétrica e esse aumento perdura por pelo menos 90 minutos após a finalização da sessão.

Segundo Mercier *et al.*<sup>23</sup>, a estimulação elétrica tem um potencial de limitar a degeneração muscular em situações em que é difícil ou impossível para o ser humano realizar exercício físico. Os resultados deste trabalho demonstram que a estimulação elétrica aplicada tanto durante o período de imobilização quanto no período de recuperação após a imobilização pode minimizar as alterações metabólicas geradas na musculatura esquelética pelo desuso, aumentando as reservas de glicogênio.

No trabalho de Qin *et al.*<sup>13</sup>, o músculo tibial anterior imobilizado foi submetido à estimulação elétrica (30 minutos, 5x/semana, durante 3 semanas, frequência 50 Hz), a qual mostrou-se efetiva na prevenção da atrofia muscular, além de promover alguns focos de degeneração muscular, provavelmente decorrentes de uma adaptação do músculo frente à estimulação elétrica.

Segundo Pattison *et al.*<sup>24</sup>, após dez dias de imobilização há uma perda na massa do músculo sóleo de 27% e 37%, para ratos jovens e velhos respectivamente, e após 30 dias de recuperação depois de cessada a imobilização, ratos novos recuperaram completamente a massa do sóleo, enquanto que, nos velhos, a recuperação da massa muscular não foi significativa, não diferindo a recuperação em 0 e 30 dias.

Neste estudo houve diminuição significativa tanto no peso do sóleo quanto no do ELD após sete dias da retirada da órtese, sendo que a associação da estimulação elétrica foi capaz de melhorar somente a massa do ELD, quando aplicada durante mais sete dias de recuperação.

Lieber *et al.*<sup>25</sup> analisaram o músculo tibial anterior submetido à estimulação diária (1 hora, cinco vezes por semana durante quatro semanas, frequências de 10 e 50 Hz), mostrando que esse protocolo atenuou a atrofia muscular não somente nos músculos diretamente ativados, mas também na musculatura passivamente alongada, secundária à estimulação dos músculos antagonistas. Em outro estudo<sup>26</sup>, os autores observaram o período de quatro semanas de recuperação do músculo quadríceps de cães submetidos a dez dias de imobilização, porém com atividade normal, além de uma corrida de 1 hora por dia. Foi observado que, mesmo após esse período, havia ainda uma diminuição de 30% na área de músculos de contração lenta e rápida, porém a fração elevada de tecido conectivo (20%) retornou aos valores normais.

Nesse sentido, estudos observaram que, além da melhora metabólica induzida pela estimulação elétrica em músculos normais e desnervados<sup>27</sup>, há também redução na fibrose<sup>28</sup>, fatos mantenedores de integridade parcial das fibras.

Tem sido analisado o período de recuperação do membro imobilizado, utilizando protocolos de treinamento, ou mesmo o uso de suplementação alimentar para uma melhor recuperação do animal pós-imobilização. No estudo de Carvalho *et al.*<sup>29</sup>, observou-se um período de três semanas de imobilização, onde um grupo de ratos foi liberado para as atividades normais e outro grupo foi submetido ao exercício por meio de natação diária, durante 60 minutos, com aumento de carga progressivo. Em ambos os grupos o trofismo retornou a seus níveis normais, e os músculos adquiriram suas propriedades elásticas pré-existentes na remobilização, independente do exercício. Neste estudo, a estimulação elétrica no período de recuperação melhorou o perfil energético muscular.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo permitem concluir que a estimulação elétrica melhora o metabolismo de glicose, sendo de grande eficácia no tratamento clínico de situações que levam ao desuso muscular, visto que é capaz de minimizar os efeitos deletérios da imobilização, garantindo o fornecimento energético para o músculo tanto durante a imobilização, quanto na remobilização, minimizando o período de recuperação dos níveis metabólicos anteriormente encontrados nessa musculatura.

## REFERÊNCIAS

- 1 Salvini TF. Plasticidade e adaptação postural dos músculos esqueléticos. In: Marques, AP. Cadeias musculares: um programa para ensinar avaliação fisioterapêutica global. São Paulo: Manole; 2000. p.3-14.
- 2 Matthews P, Pierre DM. Recovery of muscle strength following arthroscopic meniscectomy. J Orthop Sports Phys Ther. 1996;23:18-26.
- 3 Halar EM, Kathleen RB. Imobilidade. In: DeLisa JA, Gans BM. Tratado de medicina e reabilitação: princípios e prática. 3a ed. São Paulo: Manole; 2002. v.2, p.1067-87.
- 4 Hirose M, Kaneki M, Sugita H, Yasuhara S, Martyn J. Immobilization depresses insulin signaling in skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2000;279:1235-41.
- 5 Henriksen EJ, Rodnick KJ, Mondon CE, James DE, Holloszy JO. Effects of denervation or unweighting on GLUT-4 protein in rat soleus muscle. J Appl Physiol. 1991;70:2322-7.
- 6 Goodyear LJ, Hirshman MF, Valyou PM, Horton ES. Glucose transporter number, function, and subcellular distribution in rat skeletal muscle after exercise training. Diabetes. 1992;41:1091-9.
- 7 Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. Annu Rev Med. 1998;49:235-61.
- 8 Vanderthommen M, Crielaard JM. Électromyostimulation en médecine du sport. Rev Med Liege. 2001;56(5):391-5.

- 9 Cancelliero KM, Costa D, Silva CA. Isolamento social modifica o perfil bioquímico de ratos. *Rev Bras Zoociências*. 2005;7(2):247-57.
- 10 National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC: National Academy Press; 1996.
- 11 Silva CA, Guirro RR, Polacow MLO, Cancelliero KM, Durigan JLQ. Rat hindlimb joint immobilization with acrylic resin orthoses. *Braz J Med Biol Res*. 2006;39. In press.
- 12 Siu LO, Russeau JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol*. 1970;28(2):234-6.
- 13 Qin L, Appell HJ, Chan KM, Maffulli N. Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits. *Arch Phys Med Rehabil*. 1997;78:512-7.
- 14 Andersen PH, Lund S, Schmitz O, Junker S, Kahn BB, Petersen O. Increased insulin-stimulated glucose up-take in athletes: the importance of GLUT4 mRNA, GLUT protein and fiber type composition of skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*. 1993;149:393-404.
- 15 McDougall JD, Elder GCB, Sale DC, Moroz JR, Sutton JR. Effects of strength training and immobilization on human muscle fibers. *Eur J Appl Physiol*. 1980;43:25-34.
- 16 Williams PE, Goldspink G. Changes in sarcomere length and physiological properties of immobilized muscle. *J Anat (London)*. 1978;127:459-68.
- 17 Herrera NMJr, Zimmerman AN, Dykstra DD, Thompson LV. Clenbuterol in the prevention of muscle atrophy: a study of hindlimb-unweighted rats. *Arch Phys Med Rehabil*. 2001;82:930-4.
- 18 Tanaka T, Kariya Y, Hoshino Y. Histochemical study on the changes in muscle fibers in relation to the effects of aging on recovery from muscular atrophy caused by disuse in rats. *J Orthop Sci*. 2004;9:76-85.
- 19 Appell HJ. Morphology of immobilized skeletal muscle and the effects of a pre and post-immobilization training program. *Int J Sport Med*. 1986;7:6-12.
- 20 Mikines KJ, Richter EA, Dela F, Galho H. Seven days of bed rest decrease insulin action on glucose uptake in leg and whole body. *J Appl Physiol*. 1991;70:1245-54.
- 21 Hamada T, Sasaki H, Hayashi T, Moritani T, Nakao K. Enhancement of whole body glucose uptake during and after human skeletal muscle low-frequency electrical stimulation. *J Appl Physiol*. 2003;94:2107-12.
- 22 Hundal HS, Ramlal T, Reyes R, Leiter LA, Klip A. Cellular mechanism of metformin action involves glucose transporter translocation from an intracellular pool to the plasma membrane in L6 muscle cells. *Endocrinology*. 1992;131:1165-73.
- 23 Mercier C, Jobin J, Lépine C, Simard C. Effects of hindlimb suspension on contractile properties of young and old rat muscles and the impact of electrical stimulation on the recovery process. *Mech Ageing Dev*. 1999;106:305-20.
- 24 Pattison JS, Folk LC, Madsen RW, Booth FW. Identification of differentially expressed genes between young and old rat soleus muscle during recovery from immobilization-induced atrophy. *J Appl Physiol*. 2003;1:101-52.
- 25 Lieber RL, Ferro TD, Hargens AR. Differential effects of 10 Hz and 50 Hz stimulation of the tibialis anterior on the ipsilateral, unstimulated soleus muscle. *Exp Neurol*. 1988;100:426-35.
- 26 Lieber RL. Skeletal muscle structure, function, and plasticity: the physiological basis of rehabilitation. Philadelphia: Lippincott; 2002.
- 27 Guirro RRJ, Silva CA, Forti F, Cancelliero KM. Análise do músculo esquelético desnervado tratado com metformina e/ou estimulação elétrica de baixa frequência. *Rev Bras Fisioter*. 2004;8(1):21-7.
- 28 Polacow MLO, Silva CA, Guirro RRJ, Silva HC, Tanno AP, Rodrigues D. Efeito da metformina e eletroestimulação sobre as reservas de glicogênio do músculo sóleo normal e desnervado. *Rev Bras Fisioter*. 1999;3(2):55-60.
- 29 Carvalho CM, Shimano AC, Volpon JB. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético. *Rev Bras Eng Biomed*. 2002;18(2):65-73.